

## **Versuchstier des Jahres: Die Maus in der Parkinson-Forschung**



Seit 2003 ernennt der Bundesverband Menschen für Tierrechte das „Versuchstier des Jahres“. Damit sollen Tierversuche, die an einer bestimmten Tierart durchgeführt werden, öffentlich gemacht werden. Wir zeigen zudem auf, welche Möglichkeiten zur Forschung ohne den Einsatz von Tieren bereits bestehen. 2019 ist der Maus in der Parkinsonforschung gewidmet. Sie hat es verdient, denn rund zwei Drittel aller Tierversuche werden mit der Maus durchgeführt.



## INHALT

<b>Versuchstier des Jahres 2019: Die Maus im Parkinsonversuch.....</b>	<b>1</b>
<b>Exkurs: Die Parkinson-Krankheit.....</b>	<b>3</b>
<b>Die Maus im Tierversuch.....</b>	<b>4</b>
<b>Mäuse in der Parkinsonforschung.....</b>	<b>5</b>
<b>Mäuse im Laboralltag.....</b>	<b>6</b>
<b>Maus“modelle“.....</b>	<b>7</b>
• Gentechnisch veränderte Mäuse.....	7
• Transgene Mäuse.....	8
• Knockout-Mäuse.....	8
<b>Große Konsortien zur Manipulation von Mäusen.....</b>	<b>8</b>
<b>Kommerzielle Mausproduktion.....</b>	<b>8</b>
<b>Genetische Induktion von Parkinson-Symptomen.....</b>	<b>9</b>
<b>Chemische Induktion von Parkinson-ähnlichen Symptomen.....</b>	<b>10</b>
<b>Nach der Manipulation kommen die Tests.....</b>	<b>11</b>
<b>Kritik der Wissenschaft an den Modellen.....</b>	<b>13</b>
<b>Gibt es Alternativen?.....</b>	<b>14</b>
1. Patienteneigene Nervenzellkulturen für die translationale Forschung.....	14
2. Gentechnisch veränderte Zellkulturen in der Grundlagenforschung.....	14
3. Krankheitsmodelle in der „Petrischale“.....	15
4. Mikrofluidische Systeme für die Parkinsonforschung.....	15
5. Andere Zellmodelle in der Grundlagenforschung.....	15
6. In silico.....	16
<b>Mit in-vitro-Methoden zur Innovation moderner Arzneimittel.....</b>	<b>16</b>
<b>Wie sind in-vitro-Methoden einzuordnen?.....</b>	<b>16</b>
<b>Aussicht.....</b>	<b>17</b>
<b>Maßnahmenpaket umsetzen.....</b>	<b>17</b>
<b>Literatur.....</b>	<b>18</b>

## Exkurs: Die Parkinson-Krankheit

Die Parkinson-Erkrankung (früher auch Schüttellähmung genannt) gilt als zweithäufigste neurodegenerative Erkrankung nach Alzheimer. Sie beginnt typischerweise im Alter zwischen 40 und 70 Jahren, seltener früher (1, 2). In Deutschland betrifft es 250.000 bis 280.000 Menschen. Weltweit sollen 4,1 Millionen Menschen an Parkinson leiden, mit steigender Tendenz (3, 1). Die Erkrankung trifft Männern häufiger als Frauen. In rund 90% der Fälle ist die Ursache nicht oder nicht hinreichend bekannt, nur 10% sind auf genetische Gründe zurückzuführen (2, 4). Es können auch frühere Gehirnentzündung, Umweltgifte, Pestizide oder Medikamente eine Rolle spielen.

Bei Parkinson sterben Dopamin-produzierende Nervenzellen in der sogenannten Schwarzen Substanz ab, wodurch es zu den typischen motorischen Problemen wie Tremor in Ruhe, Verlangsamung der Bewegungen, Muskelsteifheit, oder starre Mimik kommt (5, 6, 7). Neben dem Absterben der Nervenzellen werden auch vermehrt sogenannte Lewy-Körperchen in den Nervenzellen der schwarzen Substanz abgelagert (2). Zentral für die Entstehung der Erkrankung scheint die Schädigung des Komplexes I der Atmungskette in den Kraftwerken der Zellen (Mitochondrien) zu sein, aber die Wissenschaftler wissen nicht genau, welche einzelnen Schritte genau zur Neurodegeneration führen und von dort aus zur Parkinsonsymptomatik (4). Bei genetisch bedingten Parkinsonerkrankungen liegen Mutation vor allem in den fünf Genen SNCA, PARK2, PINK1, DJ-1, LRRK2 oder UCHL-1 vor. Dadurch kommt es zu einer Fehlfunktion der Mitochondrien sowie zu oxidativem Stress, wodurch sich die Nervenzellen entzünden und absterben können (8). Das Protein  $\alpha$ -Synuklein, das im Normalfall die Dopaminausschüttung in den Nervenzellen reguliert, lagert sich in den Lewy-Körperchen der Nervenzellen ab (9).

Parkinson wird meist erst dann diagnostiziert, wenn schon 60% der Dopamin-produzierenden Nervenzellen verloren gegangen sind (10). Eine derzeitige Behandlung kann die Erkrankung nicht aufhalten, es gibt noch keine Heilung. Es gibt nur symptomatische Behandlungsmöglichkeiten, die den Krankheitsverlauf für den Patienten erträglicher gestalten (11). Mit den derzeit verfügbaren Medikamenten wird versucht, den Dopamin-Mangel im Gehirn auszugleichen oder das Gleichgewicht der Neurotransmitter wiederherzustellen. Das gelingt jedoch nicht immer oder die Wirkung lässt mit der Zeit nach (12). Levodopa (L-Dopa), ein Arzneimittel, das bereits in den 70er Jahren entdeckt wurde, weitere Arzneimittel wie Safinamid (13) und die tiefe Hirnstimulation können das Fortschreiten der Erkrankung nicht verhindern.

**Abb. 1: Bei Männern tritt Parkinson um 1,5-fach häufiger auf als bei Frauen.**

**Wissenschaftler und Mediziner unterscheiden zwischen der Parkinson-Erkrankung im engeren Sinne und Parkinson-ähnlichen Erkrankungen (Parkinsonismus). Bei der Parkinson-Erkrankung im engeren Sinne ist die Dopamin-Produktion gestört, bei Parkinsonismus treten Parkinson-artige Symptome auf, die nicht durch die Krankheit Parkinson, sondern z.B. durch Neurodegeneration oder Medikamente ausgelöst werden.**

Foto: stevepb, Pixabay.





**Abb. 2: Nach immer Goldstandard bei der Behandlung der Symptome ist Levodopa (L-Dopa).**

Foto: dertrick, Pixabay.

Bei Arzneimitteln wie L-Dopa treten im fortgeschrittenen Parkinson-Zustand Nebenwirkungen wie Dyskinesien (Fehlbewegungen) und Psychosen (11) auf. Deshalb verabreichen Ärzte dann andere Dopamin-Agonisten, die die Nervenzell-Rezeptoren direkt beeinflussen. Aber auch dort treten neuropsychiatrische Probleme wie Halluzinationen, starke Schlaflosigkeit und Suchtverhalten auf. Zudem wirken sie nicht so stark gegen die Parkinson-Symptome. Weitere Wirkstoffe wie Apomorphine sind in der Entwicklung (14). Ein neuerer Ansatz ist das Antidiabetikum Exenatid, mit dem sich auf Dopamin reagierende Nervenzellen im Gehirn zumindest jüngerer Patienten stabilisieren lassen (12).

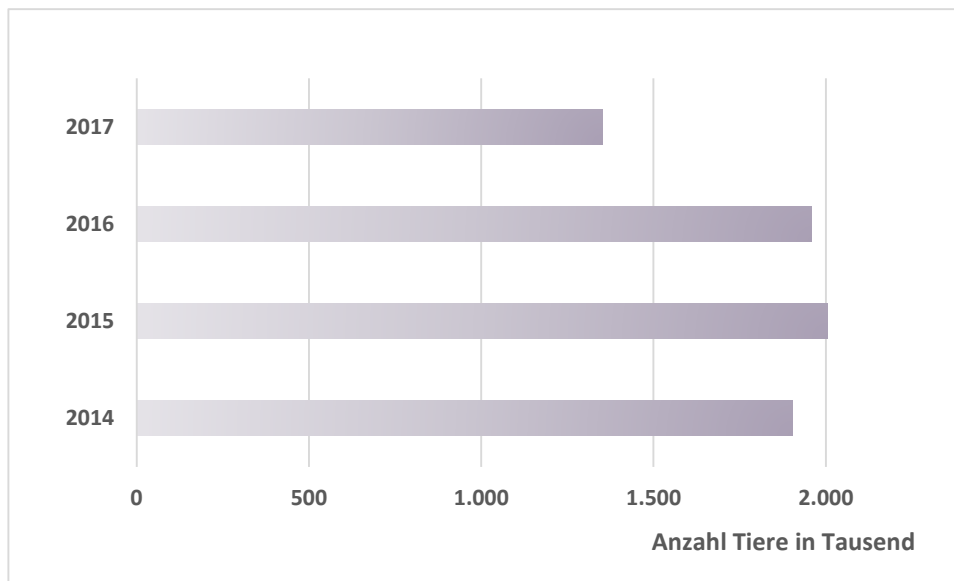
Durch eine tiefe Hirnstimulation sind weniger Medikamente notwendig. Dabei wird eine Elektrode direkt ins Hirn implantiert und über einen internen Pulsgenerator hochfrequente Impulse erzeugt. Jedoch ist die Anwendbarkeit auf bestimmte Patientengruppen beschränkt, die Wirksamkeit teilweise unzureichend und es kommt zu Persönlichkeitsveränderungen. Zukunftsmusik ist die Transplantation neuer auf Dopamin reagierende Nervenzellen (15). Sie ist jedoch mit ethischen Bedenken, einem Mangel an Spenderzellen und einem schlechten Überleben der transplantierten Zellen im Empfängergewebe verbunden. Es fehlt auch eine Standardisierung dieser Prozedur (16).

## ***Die Maus im Tierversuch***

Die Maus ist seit Jahrzehnten das Versuchstier Nr. 1 in Deutschland. Im Jahr 2017 wurden 1.350.727 Mäuse im Tierversuch verbraucht. Davon waren 53% gentechnisch verändert worden, 11,5% mit einem belastenden Phänotyp (17).



**Abb. 3: Mäuse dienen am Häufigsten für die Parkinsonforschung.**  
Foto: Filo, iStockphoto.



**Grafik 1: Verbrauchte Mäuse zu Forschungszwecken in Deutschland zwischen 2014 und 2017. Die Tiere wurden nach § 7 (2) TierSchG eingesetzt, getötete Tiere zur Entnahme von Organen zu wissenschaftlichen Zwecken nach § 4 (3) TierSchG sind eingeschlossen.**

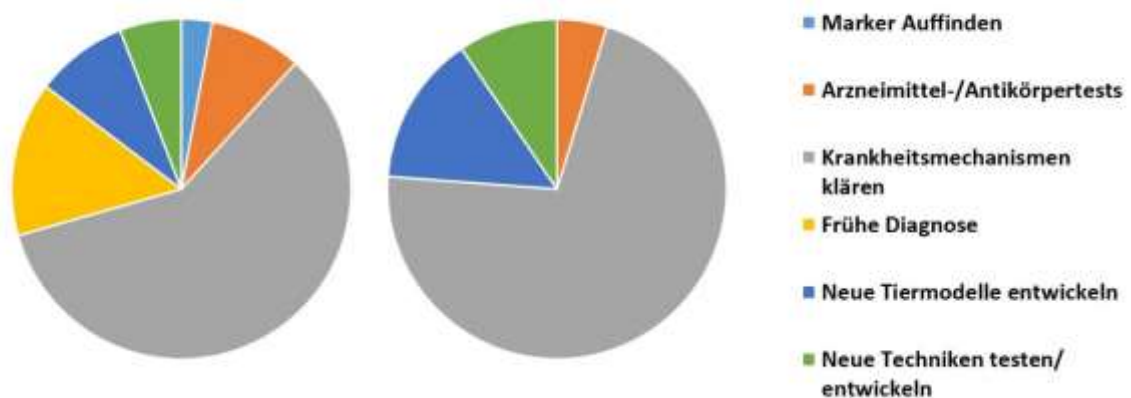
Quelle: Versuchstierstatistiken des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft.

60% der Versuchsmäuse wurden in der Grundlagenforschung, 18% in der angewandten bzw. translationalen Forschung eingesetzt. Letztere hat zum Ziel, ein Verfahren oder Therapie möglichst schnell in die Anwendung zu bringen. Rund 15% der Mäuse litten in gesetzlich vorgeschriebenen Tests. Die restlichen Mäuse kamen in der Aus-, Fort- und Weiterbildung, für Fragen der Arterhaltung oder zur Aufrechterhaltung von Zuchtkolonien zum Einsatz.

Die amtlichen Versuchstierzahlen lassen keine direkten Rückschlüsse auf die Zahl verbrauchter Mäuse in der Parkinsonforschung zu. Die Tierzahlen sind irgendwo in der Kategorie „Erforschung des menschlichen Nervensystems“ und „mentale Erkrankungen“ verborgen, wozu auch z.B. Alzheimer- und Demenzerkrankungen zählen. Aus diesem Grunde haben wir die nicht-technischen Zusammenfassungen (NTPs) näher angeschaut, die beim Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) in einer Datenbank innerhalb von 12 Monaten veröffentlicht werden müssen. Die NTPs dokumentieren die genehmigten Tierversuche, nicht den tatsächlichen Verbrauch (18). Die genehmigten Tierzahlen gelten zudem in der Regel für 3-5 Jahre. Die Beschreibungen sind dort nicht immer eindeutig und häufig lückenhaft.

## ***Mäuse in Parkinsonforschung***

Die Maus ist DAS Versuchstier in der Grundlagen- und angewandter Forschung zur Untersuchung von Parkinson. Hinzu kommen in geringerem Maße Ratten (6.808 in 2017, 5.216 in 2018), Zebrafische (3.968 in 2017) und Schafe (20 in 2017), sowie einige Javaneraffen für gesetzlich vorgeschriebene Arzneimitteltests zur Behandlung von Parkinson (96 in 2017, 17 in 2018, Quellen: NTPs in [www.Animaltestinfo.de](http://www.Animaltestinfo.de), BfR, (18)). Die Versuche mit Mäusen dienen hauptsächlich der Aufklärung von Krankheitsmechanismen, gefolgt von Tests zur Entwicklung frühzeitiger Diagnosen. Dabei wurden Mäuse zuvor entweder direkt genetisch manipuliert oder Tiere mit einem Nervengift wie z.B. MPTP behandelt und eine Mutation ausgelöst.



**Grafik 2: Hauptzielsetzungen der Tierversuche mit Mäusen 2017 (links) und 2018 (rechts) in Deutschland.**

Quelle: Nicht-technische Projektzusammenfassungen, Animaltestinfo, BfR.

In 2017 und 2018 wurden knapp zwei Drittel aller „Parkinson“-Mäuse zu Zwecken der Aufklärung von Krankheitsmechanismen verwendet (grau). Zweit häufigste Zielsetzung war die frühzeitige Diagnose (gelb) in 2017. 2018 wurden zusätzlich mehr Tier“modelle“ entwickelt und neue Techniken getestet. Frühe Diagnosen und Marker spielten dagegen keine Rolle.

## ***Mäuse im Laboralltag***

In der Natur leben Mäuse in festen Sozialverbänden, sie brauchen die ständige Interaktion mit ihren Artgenossen. Die Kommunikation spielt sich über Duftstoffe und Laute vor allem im Ultraschallbereich ab (19). Untersuchungen ergaben, dass männliche Mäuse bei der Begegnung mit Weibchen im Ultraschallbereich zwischen 30 und 110 Kilohertz regelrechte Gesänge mit verschiedenen Silben und sich wiederholenden Sequenzen darbieten (20). Im Vergleich dazu liegt die obere Hörschwelle des Menschen etwa bei 20 Kilohertz.



**Abb. 4: Außerhalb eines Hauses unterwegs: Hausmaus (*Mus musculus*).**  
Foto: Georg Wietschorke, Pixabay.

Im Labor dagegen sieht das Leben einer Maus ganz anders aus. Mäuse lassen sich schnell vermehren und werden in großer Zahl auf kleinem Raum gehalten. Nach Anhang III, Teil B der Europäischen Tierversuchsrichtlinie EU/63/2010 steht Mäusen in Vorratshaltung und während der Versuche im Labor eine Fläche von 60 bis 100 Quadratzentimetern pro Tier bei 12 Zentimeter Höhe zur Verfügung. Ein Zuchtpaar bekommt nach Verordnung eine Fläche von 330 Quadratzentimetern bei 12 Zentimeter Höhe zugestanden (21). Die Haltung ist nicht annähernd tiergerecht, da die Mäuse ihre Bedürfnisse z. B. nach ausreichender Bewegung, Klettern und Nagen nicht erfüllen können. Nachdem sich Wissenschaftler in den letzten Jahren immer mehr mit der Verbesserung der Haltungsmethoden auseinandergesetzt haben, sind mittlerweile in den kleinen Plastikkäfigen meist Einstreu, Häuschen, Beschäftigungsmaterial für die Tiere vorhanden.

**Abb. 5: Zu Hunderten werden Mäuse für Versuche gezüchtet. Hier werden mehrere Tiere während des Tierversuchs in Plastikwannen gehalten, die in fahrbaren Ständern stehen.**

Foto: C. Hohensee.



## ***Maus“modelle“***

In der biomedizinischen Forschung wird der Begriff „Tiermodell“ für Tierarten oder Zuchtlinien verwendet, die Symptome einer bestimmten menschlichen Erkrankung entwickeln können. An diesen Tieren werden dann, stellvertretend für den Menschen, Symptome und Verläufe dieser Krankheitsbilder untersucht. Ergebnisse aus Versuchen mit solchen Tiermodellen sind jedoch nicht ohne Weiteres auf den Menschen übertragbar.

In der Parkinsonforschung unterscheiden Wissenschaftler zwischen ätiologischen und symptomatischen Tiermodellen. Ätiologische Tiermodelle tragen genau die Mutationen, die auch beim Menschen bekannt sind. Die Forscher wollen damit die Entstehung der Erkrankung verstehen und biochemische sowie zelluläre Veränderungen finden. *Symptomatische* Modelle stellen nur das äußere Erscheinungsbild der menschlichen Bewegungsstörung dar. Sie werden genutzt, um Wirkstoffe zu testen und anatomische sowie physiologische Vorgänge zu entdecken (22).

Die meisten Wissenschaftler sind sich darin einig, dass keines der verfügbaren generierten Modelle alle Aspekte der Erkrankung reproduzieren kann. Zudem sind die aktuell verfügbaren Tiermodelle nicht zuverlässig und informativ genug (22). Trotzdem werden sie immer wieder hergestellt und genutzt.

### **Gentechnisch veränderte Mäuse**

Durch zahlreiche gentechnische Methoden werden Mäuse routinemäßig zur Herstellung von Krankheits-“Modellen“ genutzt. Eine besondere Rolle spielt dabei eine weltweit etablierte Methode unter dem Namen CRISPR/Cas9, eine Genschere, die an der gewünschten Stelle den DNA-Strang öffnet und ermöglicht, ein Gen auszuschneiden, einzufügen oder sogar nur ein Nukleotid zu verändern.

### **Transgene Mäuse**

Mäuse, denen ein zuvor nicht vorhandenes Gen oder eine Gensequenz in das Genom eingebaut wurde, nennt man „transgen“. Das fremde Erbmateriale kann von Mäusen, anderen Tierarten oder auch vom Menschen stammen. Im Falle der Parkinson-Erkrankung wird meist eine menschliche Gensequenz oder ein mutiertes Gen gezielt an eine Stelle des Genoms eingebracht („Knock-in“). Ziel ist es, Krankheiten des Menschen in den Mäusen zu erzeugen, um darüber Erkenntnisse zu gewinnen oder Heilmittel zu testen.

### **Knockout-Mäuse**

Eine weitere Methode zur Veränderung des Erbgutes der Mäuse ist die sogenannte Knockout-Technik. Dabei werden gezielt bestimmte mauseigene Gene dauerhaft deaktiviert oder entfernt („Knockout-Mäuse“, 23). In manchen Fällen wird das Gen-Knockout nicht dauerhaft angelegt, sondern „nur“ eine epigenetische<sup>4</sup> Veränderung durch ein zusätzliches Protein bewirkt, das das Ablesen der Gensequenz verhindert. Eine Variante ist das Gene silencing: Durch kleine RNA-Stücke (siRNA) oder kurze haarnadelförmige RNA-Stücke (shRNA) wird nicht das Gen selbst, sondern die messenger-RNA eines Gens inaktiviert, die als Vorlage für die Umsetzung in ein Protein dient (23).

## **Große Konsortien zur Manipulation von Mäusen**

Weltweit gibt es das Projekt *International Mouse Phenotyping Consortium* (IMPC, (24)). Ziel des IMPC ist die Herstellung und Phänotypisierung gezielter Knockout-Mausmutanten für mehr als 20.000 bekannte und vermutete Mausgene in embryonalen Stammzellen. Das IMPC ist ein Zusammenschluss von derzeit 20 internationalen Forschungseinrichtungen und fünf Fördermitgliedern, unter anderem der Europäischen Union. Zu den Forschungseinrichtungen gehören neben Universitäten die Unternehmen Charles River und das Jackson Laboratory. Aus Deutschland ist das Helmholtz-Zentrum München (HZM) vertreten. In einer Datenbank sind 53 Datensätze für Knock-Out-Mäuse erfasst, die für die Erforschung der Parkinson-Erkrankung genutzt werden können. Enthalten sind z.B. Informationen über die manipulierten Gene PARK1-4, PARK7, PINK1, aber auch über veränderte Gene, die für andere Proteine kodieren und dadurch neurologisch verursachte Bewegungsstörungen auslösen. Auch Parkinson-Frühsstadien und Parkinson-ähnliche Erkrankungen gibt es hier. Die Informationen werden den Mitgliedern in Form von manipulierten embryonalen Stammzellen, Vektoren, Daten, Protokollen und Analysetools für ihre weitere Forschung kostenlos zur Verfügung gestellt

Europaweit gibt es zudem ein Programm zur schnellen Erzeugung genetischer Mausmutanten, das *European Conditional Mouse Mutagenesis Program* (EUCOMM). EUCOMM führt und aktualisiert eine Datenbank über gentechnisch manipulierte embryonale Stammzellen (25). Aus Deutschland sind das Institut für Experimentelle Genetik und das Institut für Entwicklungs-genetik des Helmholtz-Zentrums München (HZM) sowie die Universität Frankfurt am Main involviert. Am HZM entwickeln die Forscher z.B. knock-out-Mutanten, bei denen die Mutation in den Mäusen nur unter kontrollierten Bedingungen Parkinson auslöst. Das HZM züchtet zudem Mäuse, bei denen die gängigen Parkinson-Gene wie LRRK2, PINK1 oder DJ-1 in die Tiere eingebracht werden (10, 26).

## **Kommerzielle Mausproduktion**

Das Unternehmen GenOway mit Sitz in Lyon, Frankreich, hat sich auf die Erzeugung von gentechnisch veränderten Mäusen, Ratten und Zellmodellen spezialisiert (27). Das Unternehmen kooperiert bei der Entwicklung und Vermarktung von „Nagermodellen“ mit Universitäten, der pharmazeutischen Industrie wie Merck sowie Charles River. GenOway hat ein Parkinson-Mausmodell entwickelt, bei dem

das Pla2g6-Gen manipuliert wurde, welches für bestimmte Parkinson-Symptome verantwortlich gemacht wird (28). Mutationen in dem Gen verändern den Phospholipidstoffwechsel in den Nervenzellen (29).

Das Unternehmen Charles River dagegen unterstützt Wissenschaftler bei deren eigener Entwicklung, Charakterisierung, Erhaltung und Verbreitung eines Parkinson-Mausmodells. Unter ihren *ready-to-use*-Mäusen ist ein Parkinson-Modell nicht zu finden. In Zusammenarbeit mit dem US-amerikanischen Jackson Laboratory in Bar Harbor, Maine, vermarktet Charles River zudem deren JAX™ Maus u.a. in Europa. Das Jackson Laboratory bietet 202 verschiedene Mausstämme an, die für die Parkinsonforschung entwickelt worden sind (30, 31). Einige sind als lebende Mäuse bestellbar, werden in Kolonien gezüchtet und gehalten. Von selteneren Stämmen gibt es gefriergetrocknete Embryonen oder es kann Maussperma bestellt werden (32). Die Implantation von kryokonservierten (in flüssigem Stickstoff gelagerten) Embryonen ist ein Verfahren, das Wissenschaftler auch bei der In-vitro-Fertilisation anwenden (33).

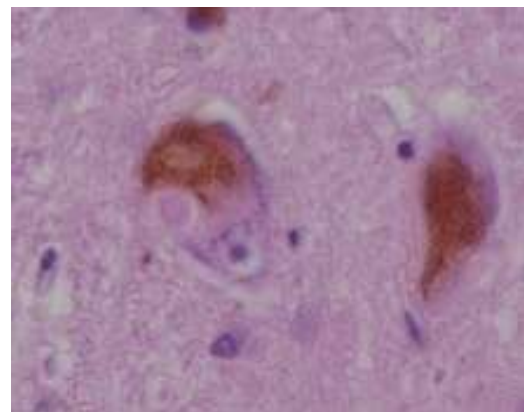
## Genetische Induktion von Parkinson-Symptomen

Weniger als 10 Prozent aller Parkinson-Fälle sind genetisch bedingt. Trotzdem wird dazu mit Tieren geforscht. Fünf Gene spielen dabei die Hauptrolle: SNCA, PARK2, PINK1, DJ-1 und LRRK2. Ein Teil der Gene sind autosomal-dominant, d.h. es genügt eine Mutation auf einem der paarweise vorkommenden Gene, um die Erkrankung auszulösen. Eine derartige Mutation kommt nicht auf einem Geschlechtschromosom vor und ist daher geschlechtsunabhängig. Zu den autosomal-dominanten Genen gehören SNCA (für das Protein  $\alpha$ -Synuklein) und das Gen PARK8 für ein Enzym mit dem Namen LRRK2 (Leucin-reiche Repeat-Kinase 2).

### SNCA

Viele Untersuchungen drehen sich um das gefürchtete Protein  $\alpha$ -Synuklein. Es lagert sich in den sogenannten Lewy-Körperchen ab und wird als eine Ursache für Parkinson vermutet, da sie für das Absterben der Nervenzellen verantwortlich sein sollen (9). Eine Punktmutation auf dem Gen ist ausreichend, um den Prozess auszulösen. Die im Tier ausgelösten Punktmutationen im Gen SNCA nennen sich A53T, A30P oder E46K. Ergebnis ist ein höherer Gehalt an  $\alpha$ -Synuklein, das Fibrillen bildet und damit die Lewy-Körperbildung ankurbelt (33).

Es wurden mehrere  $\alpha$ -Synuklein transgene Parkinson-maus-Linien gebildet, jedoch hat keines der Modelle die Parkinson-Erkrankung genau dargestellt. Zwar konnten die Wissenschaftler Funktionsstörungen auslösen, jedoch kam es zu keinem fortschreitenden Verlust von auf Dopamin reagierenden Nervenzellen. Deshalb haben Wissenschaftler in die transgenen Mäuse zusätzlich genetisches Material von entarteten Proteinen (Prionen) eingebracht, um den vollen Umfang der  $\alpha$ -Synuklein-Pathologie auszulösen, wie sie auch beim Menschen beobachtet wird (35).



**Abb. 6: Lewy-Körperchen in melaninhaltigen Nervenzellen der Schwarzen Substanz bei Parkinson.**

Foto: Dr. Andreas Becker. Wikipedia CC

### *PARK8*

PARK8 ist die Genvorlage für ein großes Enzym mit dem Namen LRRK2 mit vielen Bindedomänen. Das Enzym ist an Zellmembranstrukturen lokalisiert. Durch die Mutation wird die Enzymfunktion inaktiviert (36, 37). Dies behindert den zellulären Transportprozess und beeinflusst das Recycling in den Zellen sowie den Neurotransmittertransport. LRRK2-Mäuse haben zwar Anomalien im nigrostriatalen System und Verhaltensauffälligkeiten, bilden jedoch einen sehr milden Phänotyp mit minimaler Neurodegeneration aus. Die Modelle werden als nicht robust betrachtet (35).

Bei autosomal rezessiven Genen müssen beide Chromosomen von der Mutation betroffen sein, um Parkinson auszulösen. Die am besten charakterisierten Gene sind Parkin, DJ-1 und PINK1. Für jedes dieser Gene wurde wenigstens ein Knockout-Mausmodell entwickelt, aber keines der Züchtungen weist die charakteristische Pathologie in der Gegend der schwarzen Substanz auf, weshalb die Knockout-Mäuse zur Erforschung früher, neurodegenerativer Veränderungen eingesetzt werden (35).

### *PARK2*

Das Gen PARK2 kodiert für ein Enzym mit dem Namen Ubiquitin-E3-Ligase, auch „Parkin-Protein“ genannt. Im Normalzustand markiert Parkin defekte Proteine in Dopamin-bildenden Nervenzellen, indem es ein Signalmolekül (Ubiquitin) an das Protein anhängt, damit es abtransportiert werden kann. Zu diesem Vorgang kommt es nicht, wenn das Gen mutiert ist. Es sammeln sich defekte Proteine in den Zellen, wodurch diese absterben (38, 39).

### *DJ-1/PARK7*

Das Gen DJ-1 (syn. PARK7) kodiert für ein anderes Enzym. Dieses sorgt u.a. für die Produktion von D-Laktat und Glykolat, die für die Leistungsfähigkeit der Mitochondrien und damit für die Nervenzellen überlebenswichtig sind (40, 41).

### *PARK6/PINK1*

Das Gen PARK6 ist die Vorlage für das Enzym PINK1, das mit Parkin kooperiert. PINK1 bindet an defekte Mitochondrien. Es sammelt sich dabei an der Außenmembran des Mitochondriums an und aktiviert die Enzymfunktion von Parkin (siehe oben). Parkin hängt dann ein Signalmolekül an, damit das Mitochondrium abgebaut wird (42).

Forscher vermuten einen Zusammenhang zwischen den Genvarianten und einem Einfluss von Umweltchemikalien (34). Um dies zu untersuchen, wurden die oben beschriebenen Gene in Mäuse manipuliert, jedoch die Mäuse häufig noch zusätzlich Nervengiften ausgesetzt – eine doppelte Qual.

## ***Chemische Induktion von Parkinson-ähnlichen Symptomen***

### *Rotenon*

Mit dem in den EU-Mitgliedstaaten verbotenen (43) Insektizid Rotenon werden in Mäusen, Ratten und anderen Tieren Parkinson-ähnliche Symptome erzeugt. Es greift die Atmungskette der Mitochondrien an (44). Die Substanz wird den Tieren häufig über eine osmotische Mikropumpe systemisch verabreicht (34). Dadurch werden Degenerationen Dopamin produzierender Nervenzellen, Ablagerungen in den Nervenzellen der schwarzen Substanz ähnlich der Lewy-Körperchen bei Parkinson u.a. beschleunigt. Hinzu kommen unter anderem Einschränkungen der Verdauung, eine Beeinträchtigung der Riechfähigkeit und Bewegungsstörungen. Es sind viele Symptome, die auch bei Parkinson-Patienten auftreten.



**Abb. 7: Schmetterlingsblütler *Derris elliptica*, bekannt unter dem Namen Tubawurzel, aus Borneo. Die Pflanze trägt den Wirkstoff Rotenon, der in den EU-Mitgliedstaaten nicht als Insektizid zugelassen ist, in angrenzenden Ländern allerdings schon.**

Foto: Wibowo Djatmiko, Wikipedia CC BY-SA 3.0

### *MPTP*

war ursprünglich ein Nebenprodukt aus der Synthese eines Heroinersatzstoffes, der bei Drogenabhängigen zu Parkinson-ähnlichen Symptomen geführt hat (43). MPTP wird im Gehirn zunächst umgewandelt und dann bevorzugt in auf Dopamin reagierende Nervenzellen aufgenommen. Einmal in der Nervenzelle blockiert es u.a. die Elektronentransportkette in den Mitochondrien und führt zur Bildung von toxischen reaktiven Sauerstoffmolekülen (ROS). MPTP-behandelte Mäuse zeigen einen Zellverlust in der Schwarzen Substanz und motorische Beeinträchtigungen (35).

### *6-OHDA*

Das Nervengift 6-Hydroxydopamin (6-OHDA) ist weltweit eines der am häufigsten genutzten Neurotoxine zur künstlichen Nervenschädigung von Tieren im Dienste der Erforschung von Parkinson (45). Es wird von den Ausläufern und synaptischen Endknöpfchen der Noradrenalin- und Dopamin produzierenden Nervenzellen aufgenommen. In Folge kommt es zur Schädigung und zum Absterben der Nervenzellen (46). 6-OHDA kann die Blut-Hirn-Schranke nicht durchdringen, daher wird das Nervengift durch „intrazerebrale Infusion“ verabreicht, indem die Schädeldecke zuvor aufgebohrt wird (stereotaktische Hirnoperation (48, 49)). 6-OHDA wird vorzugsweise in die auf Dopamin reagierenden Neuronen der schwarzen Substanz überführt, wo es toxisch wirkt und letztlich die Nervenzellen abtötet (35). Es entwickelt sich allerdings nicht die gleiche Pathologie in den Zellen, wie sie bei Parkinson beobachtet wird. Das Toxin scheint nicht über den gleichen molekularen Mechanismus zu funktionieren (35). Mit den auf diese Weise behandelten Tieren wollen die Forscher trotzdem die Mechanismen der Neurodegeneration, die Verhaltensdefizite und motorischen Schädigungen untersuchen.

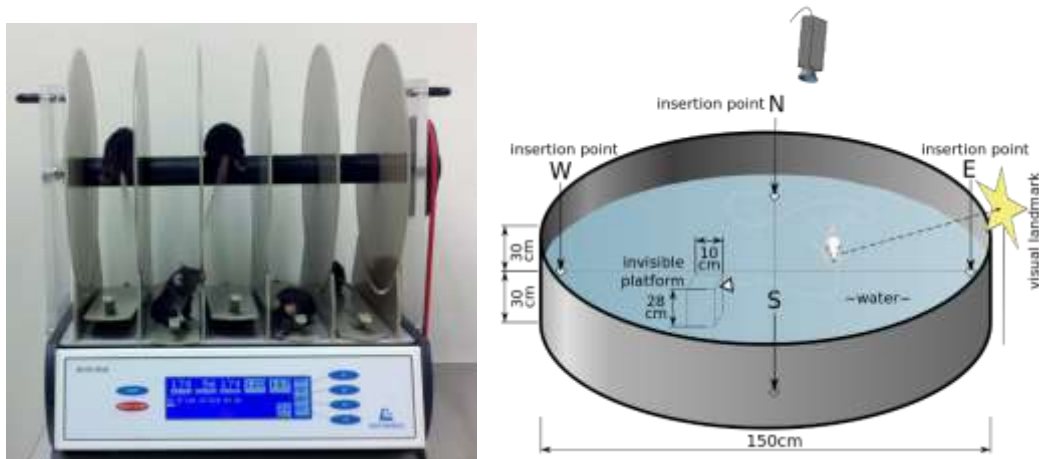
### *Neuere Manipulationen*

Es gibt noch eine Vielzahl anderer Genmanipulationen, wie das Knockout von FBX07 (49, 50, 51) oder der Eingriff in das Immunsystem von Mäusen (sogenannte Siglec11-transgenen Mäuse, (52)). Bekannt ist, dass Entzündungen eine Rolle bei der Parkinson-Erkrankung spielen (53).

## ***Nach der Manipulation kommen die Tests***

Nachdem ein Tier“modell“ kreiert worden ist, wird der Erfolg der Manipulation in motorischen und Verhaltenstests überprüft, dann ggfs. der Wirkstoff verabreicht und eine Verbesserung der Symptome ebenfalls in motorischen und Verhaltenstests überprüft.

Beim Rotarod-Test werden die Mäuse auf ein rotierendes Rad gesetzt und 5 Minuten beobachtet. Das Rad dreht sich mit 2 bis 7 Umdrehungen pro Minute, es kann auch mit variablen Geschwindigkeiten betrieben werden. Hiermit sollen die sensomotorische Koordination und der Widerstand gegen Ermüdungserscheinungen beurteilt werden (54).



**Abb. 8 links: Mäuse auf bzw. unter dem Rotarodrad. Drei Tiere zeigen bereits Ermüdungserscheinungen und sind von der sich drehenden Achse heruntergefallen.** Foto: Bmouzon, Creative Commons BY-SA 4.0.  
**Abb. 9 rechts: Morris-Wasserlabyrinthtest.** Hier müssen die Mäuse in einem trüben Wasser eines runden Schwimmbeckens eine 1,5 Zentimeter unter der Wasseroberfläche befindliche Plattform wiederfinden und sich dafür räumlich orientieren können. Bei Parkinson gelingt das nicht, da die Erkrankung eine Hippocampus-Atrophie auslöst, wobei das räumliche Lernen beeinträchtigt wird (6).

Zeichnung: Hunter.ar, Creative Commons BY-SA 4.0.

Nach MPTP-Behandlung wird ggf. zusätzlich ein Aversionsreiz in Form eines leichten Stromschlages gegeben, wenn die Mäuse vom Rad fallen (55). Es wird die Zeit analysiert, die die Tiere auf dem Rad verbleiben.

Beim Morris-Wasserlabyrinth-Test müssen die Mäuse im trüben Wasser eines runden Schwimmbeckens eine 1,5 Zentimeter unter der Wasseroberfläche befindliche Plattform wiederfinden und sich dafür räumlich orientieren können. Bei Parkinson gelingt das nicht, da die Erkrankung eine Hippocampus-Atrophie auslöst, wobei das räumliche Lernen beeinträchtigt wird (6).

Beim Open Field-Versuch werden spontane Aktivität, Explorationsverhalten und durch Parkinson ausgelöste Angstzustände der Mäuse untersucht. Die Aktivität wird für eine gewisse Zeit mit einer Videokamera aufgezeichnet. Hierbei wird die Strecke in Zentimetern bemessen, welche die Mäuse während einer halben Stunde im Open Field zurücklegen (55).

Parkinson-Mäuse müssen z.B. auf einem Grid-Walking-Gitter laufen, um das Gehverhalten bei einer ausgelösten einseitigen 6-OHDA-Läsionen zu beurteilen. Die genmanipulierte Maus wird dabei auf ein Metallgitter mit einer Maschenweite von 2,5 cm gesetzt. Für einen Zeitraum von fünf Minuten wird die Anzahl der Versuche einer Maus gezählt, ihr Gewicht auf einen Fuß zu legen, der zwischen die Drahtgitter gerät (56).

Beim Hanging-Grip-Test dagegen werden die Mäuse auf ein Metallgitter mit 2,5 Zentimeter Maschenweite für die Dauer einer Minute gesetzt. Das Gitter wird dann mit den Tieren umgedreht und beobachtet, wie lange sich die Tiere kopfüber am Maschengitter halten können, bis sie in den darunter befindlichen Käfig fallen (57).

Es gibt ferner den Pol-Test, bei dem die Mäuse auf die Spitze einer senkrecht angebrachten, 40 Zentimeter langen Stange aufgesetzt werden und beobachtet wird, wie lange sie sich auf der Stange halten können und wie sie herunterrutschen.

## ***Kritik der Wissenschaft an Modellen***

Kein einziges Modell ist in der Lage, die menschliche Parkinson-Krankheit nachzuahmen, darin sind sich die Wissenschaftler einig (22, 58, 59). Wissenschaftler haben bislang herausgefunden, dass Parkinson auf ein komplexes Wechselspiel von genetischen Ursachen Umweltfaktoren zurückzuführen ist (59). Ein vollständiges Verständnis von Parkinson ist trotz der Vielzahl an Tiermodellen nicht erzielt worden. Trotzdem sehen viele Forscher in Tiermodellen derzeit eine Notwendigkeit. Der Kritik an der Aussagefähigkeit einzelner Modelle begegnen sie mit dem Vorschlag, mehrere Einzelmodelle miteinander zu kombinieren (58).

Auf einer Tagung der Volkswagenstiftung im Februar zum Thema „Tierversuch: Geht’s auch ohne?“ kritisierte der Versuchstierkundler *Prof. Bernhard Hiebl* von der Tierärztlichen Hochschule Hannover die Aussagekraft und Übertragbarkeit von Tierversuchen auf den Menschen. Danach existierten über 50 erfolglose klinische Studien am Menschen mit Parkinson-Wirkstoffen, die allesamt zuvor im Tiermodell erfolgreich waren (60). Fast 60 Jahre nach seiner Entdeckung ist Levodopa immer noch „der Goldstandard“ für die Behandlung von Patienten mit Parkinson-Krankheit (59).

Die mangelnde Reproduzierbarkeit der Forschungsergebnisse ist ein großes Problem, insbesondere, wenn Phänotypen nur subtil in Erscheinung treten oder die individuelle Variabilität hoch ist (44). Es gibt kritische Forscher, die den Tiermanipulationsansatz für falsch halten. Denn Wissenschaftler zielen bei ihren Tiermodellkreationen meist auf die Degeneration der schwarzen Substanz. Es wird bemängelt, dass diese jedoch nicht die Ursache, sondern eher die Folge des Parkinsonprozesses ist. Tiermodelle können weder das gesunde, noch das kranke menschliche Gehirn reproduzieren (61). Hinzu kommt, dass rund 90 Prozent der Patienten keine Parkinson-Erkrankung mit ursächlicher genetischer Mutation oder Polymorphismen aufweisen. Trotzdem entwickeln Forscher weltweit unzählige gentechnisch veränderte Tiermodelle, nur um Parkinson-Phänomene zu erzeugen.

Die meisten medikamentösen Tests zur Behandlung der menschlichen Parkinsonerkrankung werden an jungen männlichen Mäusen und Ratten durchgeführt. Dies ist problematisch, da die Parkinsonerkrankung meist eine altersbedingte Erkrankung ist (44). Forscher bemängeln auch, dass Nervengifte wie 6-OHDA nicht die gleiche Pathologie in den Zellen auslösen und auch nicht über die gleichen Mechanismen laufen, wie sie bei der menschlichen Parkinsonerkrankung beobachtet wird (36). Ein Hintergrund für die bevorzugte Verwendung von Nervengift-Modellen wie mit MPTP und 6-OHDA in präklinischen Studien könnte die relativ geringen Kosten und die Geschwindigkeit der Degenerationsprozesse im Tier sein (44). Symptome, die mit Neurotoxinen in den Tieren ausgelöst werden, sind jedoch nicht mit der Parkinson-Erkrankung zu vergleichen (48). Die Neurodegenerationen werden sehr schnell innerhalb von wenigen Tagen erzeugt, die Tiere entwickeln keine für Parkinson charakteristischen Ablagerungen von Lewy-Körperchen, die aus  $\alpha$ -Synuklein bestehen. Der Hauptmechanismus, der in den Tieren ausgelöst wird, ist die Blockade des mitochondrialen Komplex I. Oft werden die Symptome auch nur auf einer Körperseite erzeugt, um motorische Beeinträchtigungen überhaupt zu erkennen (49). Es wird zudem oft nur ein einziger Zeitpunkt zur Bestimmung eines Studienergebnisses herangezogen. Therapeutische Testsubstanzen werden sogar noch vor oder während der Entwicklung der durch die Giftsubstanz ausgelösten Schädigung verabreicht (44). Das hat dann mit der Nachbildung einer menschlichen neurodegenerativen Erkrankung wenig zu tun.

Die Rekapitulation nur einiger der komplexen Krankheitsmerkmale der menschlichen Parkinsonerkrankung ist eine große Herausforderung. Während nicht-motorische Symptome wie Schlafstörungen, Depressionen, Halluzinationen, Angstzustände und Psychosen u.a. als frühdiagnostische Marker bei Parkinson immer wichtiger werden, sind diese bei Nagetieren jedoch schlecht charakterisierbar (44).

Auch an den motorischen Tests gibt es Kritik: Der Morris Wasserlabyrinth-Test, einer der am weitesten verbreitete Test bei der Messung des Hippocampus-abhängigen Lernens, kann gar nicht bei Parkinson-Tiermodellen verwendet werden, weil mögliche positive Testergebnisse nicht auf eine Gedächtnisbeeinträchtigung, sondern auf das Parkinson-Phänomen einer verlangsamten Bewegung - genannt Bradikinese - zurückzuführen sein können.

## ***Gibt es Alternativen?***

Zellkulturen bieten zumindest einige Vorteile gegenüber dem direkten Studium der Parkinson-Erkrankung am Patienten oder am Tiermodell. Sie liegen darin, dass sich mit Zellen mehrere Manipulationen gleichzeitig testen lassen, die Experimente sind von kurzer Dauer und es gibt wenig ethische und regulatorische Bedenken. Genetische und pharmakologische Eingriffe sind vergleichsweise einfach, eine Bildgebung und biochemische Analysen leicht handelbar (62).

Einige Beispiele für angewandte tierleidfreie Verfahren in der Parkinsonforschung:

### ***1. Patienteneigene Nervenzellkulturen für die translationale Forschung***

Es ist bekannt, dass bei Parkinson die Mitochondrien in den Nervenzellen geschädigt sind. Deshalb untersuchte ein Wissenschaftlerteam vom Hertie-Institut für klinische Hirnforschung und der Universität Tübingen, ob die Mitochondrien-Schädigung nur eine Begleiterscheinung oder ein Auslöser der Parkinsonerkrankung ist. Dafür entnahmen sie Hautzellen von Parkinson-Patienten, differenzierten sie zunächst in Stammzellen und entwickelten hieraus wiederum Nervenzellen. Die Zellen zeigten eine Schädigung im sogenannten GBA-Gen, dem häufigsten Risikogen für Parkinson. Das Gen ist die Vorlage für ein Enzym, das am Fettstoffwechsel beteiligt ist. Eine Schädigung führt zu einer eingeschränkten Funktion der Mitochondrien und damit der Energieproduktion. Die Wissenschaftler gaben der Zellkultur eine Form des Vitamin B3 (Nicotinamid-Ribosid) zu. Es ist eine Vorstufe des zelleigenen Coenzyms NAD, wodurch Zellen zur Bildung von neuen Mitochondrien angeregt werden. Es bildeten sich neue Mitochondrien und die Energieproduktion erhöhte sich. Die Forscher schlussfolgerten, dass Nicotinamid-Ribosid bei der Behandlung der Parkinson-Erkrankung hilfreich sein könnte (63).

### ***2. Gentechnisch veränderte Zellkulturen in der Grundlagenforschung***

Amerikanische Wissenschaftler von der Johns Hopkins University in Baltimore, Maryland, haben eine genetische Mutation gefunden, die die Entstehung von Parkinson und der Plaque-Entwicklung im Gehirn verbindet. Für ihre Untersuchungen verwendeten die Wissenschaftler humane Nervenzellen, die sie mit der CRISPR-Cas9-Technologie genetisch veränderten. Sie ließen das Gen GBA1 mutieren und beobachteten, dass ein bestimmtes Fettmolekül vermehrt auftrat. Gleichzeitig verringerte sich die Anzahl der  $\alpha$ -Synuklein-Tetramere.

In der Zellmembran haben Fettmoleküle die Funktion, Proteine in einer bestimmten Art und Weise zusammenzuhalten. Mutiert GBA1, ändert sich die Zusammensetzung der Fettmoleküle in der Zellmembran und es kommt es zu einer vermehrten Fettbildung in den Zellen. Die Forscher vermuteten, dass die Fettmengen dazu führen, dass Proteinfragmente ( $\alpha$ -Synukleine) im Gehirn

zusammenkleben und die sogenannten "Lewy-Körper" bilden. Dadurch werden Lernen, Verhalten und Bewegungsfähigkeit beeinträchtigt. In gesunden Zellen gibt es zwar ebenfalls  $\alpha$ -Synukleine. Im Normalfall verbinden sich jedoch einzelne Proteine zu Vierergruppen, den so genannten Tetrameren. Das macht sie gegen eine Aggregation im Gehirn resistenter. Bei der Parkinsonerkrankung kleben jedoch einzelne  $\alpha$ -Synukleine an den Zellmembranen zusammen und machen es so den Neuronen unmöglich, richtig miteinander zu kommunizieren. Sie konnten diesen Prozess stoppen, indem sie einen Arzneistoff hinzugaben, der in der Therapie zweier selten vorkommender erblicher Stoffwechselerkrankungen verwendet wird (64).

### **3. Krankheitsmodelle in der „Petrischale“**

Da trotz vielfacher Modellentwicklungen Forscher bislang der Parkinson-Erkrankung noch nicht ausreichend "auf den Zahn fühlen konnten, ist die Suche nach neuen Behandlungsmöglichkeiten mit in vitro-Krankheitsmodellen weltweit mittlerweile ein gängiges Verfahren. Auch die Deutsche Forschungsgemeinschaft unterstützt die in-vitro-Krankheitsmodellentwicklung mit patienteneigenen Zellen. Im Projekt DACaION z.B. werden Wissenschaftler der Universität Hamm-Lippstadt mit dem Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin in Berlin kooperieren. Zunächst wird der Produktionsprozess der für die Erkrankung verantwortlichen Dopamin-produzierenden Nervenzellen *in vitro* genauer untersucht. Mit den neuen Erkenntnissen soll das Zellkulturverfahren optimiert und standardisiert werden. Auf der Basis von auf Dopamin reagierenden Nervenzellen von Parkinson-Patienten einer früheren klinischen Studie sollen dann Krankheitsmodelle entwickelt werden, mit denen sich z.B. kleine Moleküle auf ihre therapeutische Wirksamkeit testen lassen. Das Projekt wird über drei Jahre mit 276.000 Euro von der Deutschen Forschungsgemeinschaft finanziert (65).

### **4. Mikrofluidische Systeme für die Parkinsonforschung**

Ein Wissenschaftler vom Institut für Physikalische Biologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf erforscht die Umwandlung des Proteins  $\alpha$ -Synuklein in ein  $\beta$ -Faltblatt-Stadium, das bei der Parkinson-Erkrankung ebenfalls eine Rolle spielt. Für diesen Zweck entwickelt und verwendet er neuartige Biosensor-basierte Methoden und sogenannte Mikrofluidik-Systeme. Dabei wird das Verhalten kleinster Mengen in Flüssigkeit gelösten Proteins auf Mikrochips unter verschiedenen Bedingungen beobachtet (66).

In einem Niederländisch-Luxemburgischen Kooperationsprojekt ist gerade die Entwicklung eines "Midbrain-on-a-Chip" Projekts begonnen worden. Das Gewebe in Organoidform stammt von induzierten pluripotenten Stammzellen, gewonnen von Parkinson-Patienten. Wissenschaftler wollen damit die Parkinson-Ursachen weiter erforschen. Eine besondere Herausforderung liegt auf der Sauerstoff- und Nährstoffversorgung der kugelförmigen Organoiden. Hierfür haben sie ein Chipsystem entwickelt, mit dem Nährmediumflüsse für die Langzeitkultur dieser miniaturisierten Mittelhirne kontrolliert werden können (67).

### **5. Andere Zellmodelle in der Grundlagenforschung**

Auch andere Wissenschaftler erforschen seit einiger Zeit die biochemischen Modifikationen des  $\alpha$ -Synukleins. In Parkinson-Nervenzellen kommt mehr  $\alpha$ -Synuklein vor als in gesunden Zellen. Ein Überschuss dieses Proteins bedingt krankheitstypische Ablagerungen in den Zellen. Es ist bekannt, dass eine Phosphorylierung des Proteins (eine Phosphatgruppe wird angefügt) einen schützenden Effekt hat und eine Nitration (Anhängen eines Stickstoffoxids) einen schädigenden Effekt haben kann. Göttinger Grundlagenforscher des Exzellenzclusters CNMPB nutzen zum Studium dieser zellulären Mechanismen Hefezellen. Sie analysierten einen komplexen Mechanismus, der für die Zellsterblichkeit bei der Parkinson-Erkrankung wesentlich ist (68).

## 6. In silico

In-silico lässt sich die Parkinson-Erkrankung mit Computersimulationen, mathematischen Algorithmen und maschinellem Lernen zusätzlich erforschen. Dies erfordert aber zuverlässige humanspezifische Daten und nicht Ergebnisse vom Tier. Computerprogramme könnten genutzt werden, um die Wechselwirkungen zwischen Molekülen und Zellen über Signaltransduktionswege bis hin zum Ergebnis in gesamten biologischen Systemen vorherzusagen (61).

## Mit in-vitro-Methoden zur Innovation moderner Arzneimittel

In-vitro-Modelle bieten auf jeden Fall wichtige, innovative Screening-Möglichkeiten zur Identifizierung neuer potenzieller Therapeutika. Das Ganze ließe sich zudem im Hochdurchsatz bewerkstelligen, mit Tiermodellen ist das ausgeschlossen. Mit Hilfe von Zellkulturen des gewünschten Genotyps lassen sich Proteine oder kleine mikro-RNA-Moleküle finden, die die Umsetzung der DNA-Information in ein Protein regulieren können. In Kulturen SNCA-mutierter Nervenzellen haben Forscher z.B. entdeckt, dass ein bestimmter Signalweg gehemmt war. Durch einen Hochdurchsatz-Screen konnten sie Moleküle identifizieren, die die gehemmte Genablesung und Umsetzung in ein Protein trotzdem aktivieren und somit den Defekt beheben konnten (69). Und derartige Beispiele gibt es viele.

## Wie sind in-vitro-Methoden einzuordnen?

Die Parkinson-Erkrankung ist humanspezifisch, sehr komplex und multifaktoriell. In diesem Zusammenhang sind neue zellbasierte "Humanmodelle" unschätzbare Ressourcen, da sie die Verbindung zum menschlichen Organismus herstellen können. Die Forscher können sich der Erkrankung in einem patientenindividuellen Umfeld nähern. Wie ein Tiermodell haben jedoch auch die Modelle aus patienteneigenen Stammzellen ihre Beschränkungen. Es steht nur ein kleiner Ausschnitt des menschlichen Organismus zur Verfügung, mit dem nicht einfach so auf einen zusammenhängenden physiologischen Organismus geschlossen werden kann. Kultivierte Zellen sind reduzierte Systeme, die es uns ermöglichen, spezifische Fragen schnell zu beantworten und Signalwege bzw. mechanistische Details zu klären. Reduzierte Systeme bedeuten genauso wie ein Parkinson-Modell, dass sie nicht alle Aspekte der Parkinson-Erkrankung darstellen können (62). Deshalb unterstützen Wissenschaftler die Idee, mit einer Vielzahl an verschiedenen einzelnen Systemen puzzleartig den Krankheitsmechanismus zusammensetzen (70). Hierfür werden neue humanspezifische Ansätze aus einer Kombination von induzierten pluripotenten Stammzellen, 3D-Zellkulturen von Patienten, in silico-Analysen, nicht invasiver bildgebender Verfahren am menschlichen Gehirn und modernen AOP-Ansätzen favorisiert, die zusammen das Auffinden geeigneter Therapien beschleunigen könnten (61). AOP bedeutet Adverse Outcome Pathway. Ein AOP ist definiert als eine Reihe von Ereignissen, die mit einem molekular ausgelösten Ereignis wie z.B. der Hemmung eines Enzyms in der Zelle (molecular initiating event, MIE) startet, sich über eine Reihe von Schlüsselereignissen, wie z.B. der Veränderung eines Signaltransduktionsweges, fortsetzt und schließlich zu einem negativen Ergebnis wie z.B. zum Absterben der Nervenzellen, führt (71).

Die hohe Ausfallrate bei der Arzneimittelentwicklung beweist, dass der derzeitige Ansatz mit gentechnisch veränderten und Substanzgeschädigten Tieren - hier Mäusen – der falsche Ansatz ist.

## Aussicht

Die Arzneimittelentwickler haben ein großes Interesse an humanspezifischen Verfahren. Wissenschaftler arbeiten an Lösungen auch für den besonders komplizierten systemischen Ansatz. Erfolge gibt es u. a. im Bereich der Stammzellforschung, der Chiptechnologie und der bildgebenden Verfahren. Jede neue Technik trägt zu einer Beschleunigung der Entwicklungen insgesamt bei, denn sind die Verfahren erst einmal entwickelt, können sie auch jenseits der Risikobewertung zu einer Verringerung der Tierversuche beitragen. Dafür müssen sie einerseits flächendeckend bekannt gemacht werden und andererseits auch finanziell umsetzbar sein. So können neue technische Möglichkeiten den Weg für ganz neue Forschungsansätze allgemein ebnen, auch in der Grundlagen- und angewandten Forschung. Entscheidend für die zügige Entwicklung leistungsfähiger tierversuchsfreier Verfahren ist und bleibt am Ende jedoch eine angemessene Förderung. Die Realität sieht derzeit jedoch noch anders aus: Der Großteil der Forschungsgelder fließt immer noch in Forschung an und mit Tieren. Darum fordert der Bundesverband Menschen für Tierrechte eine umgehende Umschichtung der Fördermittel, um dem schon in der EU-Richtlinie 2010/63/EU festgehaltenen Ziel des Ausstiegs aus dem Tierversuch zielstrebig und schnellstmöglich näher zu kommen.

## Maßnahmenpaket umsetzen

Der Bundesverband Menschen für Tierrechte setzt sich auf wissenschaftlicher, politischer und gesellschaftlicher Ebene für die Abschaffung des Tierversuchs ein. Das Versuchstier des Jahres ist ein Mittel, mit dem der Verband die Öffentlichkeit aufklärt und konkrete Lösungsmöglichkeiten aufzeigt. Um sein Ziel zu erreichen, hat der Verband einen umfangreichen Maßnahmenkatalog zusammengestellt und fordert von der Politik eine Gesamtstrategie für eine tierleidfreie Wissenschaft. Ganz oben auf der Liste der notwendigen Maßnahmen steht der massive Ausbau der tierversuchsfreien Forschung, insbesondere durch die Erhöhung der Forschungsgelder innerhalb Deutschlands und in der EU. Wer ernsthaft eine erfolgreiche Entwicklung der neuen Methoden verfolgt, muss für diesen Wissenschaftszweig innerhalb der Lebenswissenschaften einen mindestens gleich hohen Etat ausweisen wie für die tierexperimentelle Forschung. Ebenso unentbehrlich sind neue Kriterien bei der Vergabe von Fördermitteln sowie die Förderung von Nachwuchswissenschaftlern. Deshalb ist die Einrichtung von Lehrstühlen und Professuren.

für eine tierversuchsfreie Wissenschaft, Lehre und Ausbildung ein absolutes Muss. Eine weitere wichtige Begleitmaßnahme ist das Verbot bestimmter Tierversuche. Verbotsregelungen für bestimmte Tierversuche sind schon heute EU-rechtlich möglich, auch wenn noch keine tierversuchsfreien Methoden vorhanden sind. Hierzu gehört insbesondere das ausnahmslose Verbot schwerbelastender Tierversuche. Auf Ebene der behördlichen Anerkennungsverfahren muss die drastische Verkürzung der Prüf- und Anerkennungszeiten für tierversuchsfreie Methoden ermöglicht werden. Derzeit dauert diese Phase zwischen sechs und 15 Jahren! Im Rahmen seines Projektes *InVitro+Jobs* stellt der Bundesverband Menschen für Tierrechte tierversuchsfreie Verfahren und Wissenschaftler vor. So trägt das Wissenschaftsportal dazu bei, die wichtige Information und Vernetzung in diesem Bereich voranzutreiben.

## Literatur:

- (1) <https://www.aerzteblatt.de/blog/98236>
- (2) <https://www.parkinsonfonds.de/uber-parkinson/arten-von-parkinson/>
- (3) <https://www.parkinson-gesellschaft.de/die-dpg/morbus-parkinson.html>
- (4) Feuerstein, T. J. (2009). In: Aktories, Förstermann, Hofmann & Starke (Hrsg). Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. München.
- (5) <https://www.spektrum.de/lexikon/neurowissenschaft/substantia-nigra/12484>
- (6) Schneider, C. B. Linse, K., Schönfeld, R., Brown, S., Koch, R., Reichmann, H., Leplow, B. & Storch, A. (2017). Spatial learning deficits in Parkinson's disease with and without mild cognitive impairment. Parkinsonism and Related Disorders 36: 83-88. doi: 10.1016/j.parkreldis.2016.12.020.
- (7) <https://www.netdoktor.de/krankheiten/parkinson/>
- (8) Himadri Shekhaar Baul, Ceera Manikandan & Dwaipayan Sen (2019). Cannabinoid Receptor as a potential therapeutic target for Parkinson's Disease. Brain Research Bulletin 146: 244-252.
- (9) <https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/72363/Parkinson-Alpha-Synuclein-reist-vom-Hirn-zum-Magen>
- (10) <https://www.helmholtz-muenchen.de/idg/research/disease-modelling/parkinson-disease/research/index.html>
- (11) Brückmann, H., Stank, L. & Stark, H. (2016). Morbus Parkinson. Therapie in Bewegung. <https://www.pharmazeutische-zeitung.de/ausgabe-382016/therapie-in-bewegung/>
- (12) Hüttemann, D. (2018). Exenatid könnte jüngeren Patienten helfen. <https://www.pharmazeutische-zeitung.de/exenatid-koennte-juengeren-patienten-helfen/>
- (13) Mende, A. (2015). Mehr On als off. <https://www.pharmazeutische-zeitung.de/ausgabe-172015/mehr-on-als-off/>
- (14) Borkar, N., Mu, H. & Holm, R. (2018). Challenges and trends in apomorphine drug delivery systems for the treatment of Parkinson's disease. Asian Journal of Pharmaceutical Sciences 13: 507–517.
- (15) Henchcliffe, C. & Parmar, M. (2018). Repairing the Brain: Cell Replacement Using Stem Cell-Based Technologies. J Parkinson's Disease 8(s1): S131-S137. doi: 10.3233/JPD-181488
- (16) Schulze, N. C. (2013). Das Tiermodell des Morbus Parkinson - Verhaltensstudien und morphologische Evaluation nach Transplantation neuronaler Progenitorzellen. Inaugural-Dissertaion an der zierärztlichen Hochschule Hannover.
- (17) [https://www.bmel.de/DE/Tier/Tierschutz/\\_texte/TierschutzTierforschung.html?docId=11850874](https://www.bmel.de/DE/Tier/Tierschutz/_texte/TierschutzTierforschung.html?docId=11850874)
- (18) <https://www.animaltestinfo.de/>
- (19) Dieterlen, Fritz et al. (1979/80): Die Mäuseverwandten. In: Grzimeks Tierleben, Säugetiere Band 2.
- (20) Holy TE, Guo Z (2005). Ultrasonic Songs of Male Mice. PLoS Biol 3(12): <http://www.plosbiology.org/article/info:doi/10.1371/journal.pbio.0030386>
- (21) Richtlinie 2010/63/EU des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2010 zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/ALL/?uri=CELEX%3A32010L0063>

- (22) Meringolo, M., Tassone, A, Imbriani, P., Ponterio, G. & Pisani, A. (2018). Dystonia: Are animal models relevant in therapeutics? International meeting of the French society of neurology & SOFMA Rev Neurol (Paris). 174(9): 608-614. doi: 10.1016/j.neurol.2018.07.003
- (23) <https://www.news-medical.net/life-sciences/Gene-Knockout-versus-Knockdown.aspx>
- (24) <http://www.mousephenotype.org/data/documentation/aboutImpc#whatisimpc>
- (25) <http://www.mousephenotype.org/about-ikmc/eucomm>
- (26) <https://www.mpg.de/9913636/lrrk2-kinase-parkinson>
- (27) <https://www.genoway.com/about/genoway/who-we-are.htm>
- (28) Qingde Zhou, Allen Yen, Grzegorz Rymarczyk, Hirohide Asai, Chelsea Trengrove, Nadine Aziz, Michael T. Kirber, Gustavo Mostoslavsky, Tsuneya Ikezu, Benjamin Wolozin & Victoria M. Bolotina (2016). Impairment of PARK14-dependent Ca<sup>2+</sup> signalling is a novel determinant of Parkinson's disease. Nat Commun. 7: 10332. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4729940/>
- (29) [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease\\_Search.php?lng=DE&data\\_id=10365&Disease\\_Disease\\_Search\\_diseaseType=ORPHA&Disease\\_Disease\\_Search\\_diseaseGroup=35069&Krankheite\(n\)/Krankheitsgruppe=PLA2G6-assozierte-Neurodegeneration&title=PLA2G6-assozierte-Neurodegeneration&search=Disease\\_Search\\_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=DE&data_id=10365&Disease_Disease_Search_diseaseType=ORPHA&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=35069&Krankheite(n)/Krankheitsgruppe=PLA2G6-assozierte-Neurodegeneration&title=PLA2G6-assozierte-Neurodegeneration&search=Disease_Search_Simple)
- (30) <https://www.criver.com/microsites/jax-mice>
- (31) <https://www.jax.org/mouse-search?searchTerm=Parkinson>
- (32) <https://www.criver.com/sites/default/files/resource-files/eguide-importing-jax-strains.pdf>
- (33) <https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/70017/IVF-mit-kryokonservierten-Embryonen-haeufiger-erfolgreich>
- (34) Johnson ME & Bobrovskaya L. (2014). An update on the rotenone models of Parkinson's disease: Their ability to reproduce the features of clinical disease and model gene–environment interactions. Neurotoxicology. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuro.2014.12.002>
- (35) McGonigle, P. (2013). Animal Models of CNS Disorders. Biochemical Pharmacology. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2013.06.016>
- (36) <https://www.mpg.de/9913636/lrrk2-kinase-parkinson>
- (37) Martin Steger, Francesca Tonelli, Genta Ito, Paul Davies, Matthias Trost, Melanie Vetter, Stefanie Wachter, Esben Lorentzen, Graham Duddy, Stephen Wilson, Marco AS Baptista, Brian K Fiske, Matthew J Fell, John A Morrow, Alastair D Reith, Dario R Alessi & Matthias Mann (2016). Phosphoproteomics reveals that Parkinson's disease kinase LRRK2 regulates a subset of Rab GTPases. eLife 2016;5:e12813. DOI: 10.7554/eLife.12813
- (38) Ebba Lohmann, Magali Periquet, Vincenzo Bonifati et al. (2003). How Much Phenotypic Variation Can Be Attributed to *parkin* Genotype? Ann Neurol 54: 176–185.
- (39) E. V. Konovalova, O. M. Lopacheva, I. A. Grivennikov, O. S. Lebedeva, E. B. Dashinimaev, L. G. Khaspekov, E. Yu. Fedotova & S. N. Illarioshkin (2015). Mutations in Parkinson's Disease-Associated PARK2 Gene Are Accompanied by Imbalance in Programmed Cell Death Systems. Acta Naturae 7/4 (27): 146-149.
- (40) Yusuke Toyoda, Cihan Erkut, Francisco Pan-Montojo, Sebastian Boland, Martin P. Stewart, Daniel J. Müller, Wolfgang Wurst, Anthony Hyman & Teymuras V. Kurzchalia (2014). Products of the Parkinson's-disease-related glyoxalase DJ-1, D-lactate and glycolate, support mitochondrial membrane potential and neuronal survival. The Company of Biologists, (doi: 10.1242/bio.20149399)
- (41) [https://www.mpg.de/8331877/parkinson\\_joghurt](https://www.mpg.de/8331877/parkinson_joghurt)

- (42) Alicia M. Pickrell & Richard J. Youle (2015). The Roles of PINK1, Parkin and Mitochondrial Fidelity in Parkinson's Disease. *Neuron*. 85(2): 257–273.
- (43) [https://mobil.bfr.bund.de/cm/343/parkinsonkrankheit\\_und\\_exposition\\_gegenueber\\_pflanzenschutzmitteln.pdf](https://mobil.bfr.bund.de/cm/343/parkinsonkrankheit_und_exposition_gegenueber_pflanzenschutzmitteln.pdf)
- (44) Vingill, S., Connor-Robson, N. & Wade-Martins, R. (2017). Are rodent models of Parkinson's disease behaving as they should?. *Behav Brain Res*. 352: 133-141. doi: 10.1016/j.bbr.2017.10.021
- (45) Simola, N., Morelli, M. & Carta, A. R. (2007). The 6-Hydroxydopamine Model of Parkinson's Disease. *Neurotoxicity Research* 11 (3,4): 151-167.
- (46) <https://www.spektrum.de/lexikon/neurowissenschaft/6-hydroxydopamin/5747>
- (47) <https://flexikon.doccheck.com/de/Stereotaxie>
- (48) P. Gubellini & P. Kachidian (2015). Animal models of Parkinson's disease: An updated overview. *Rev Neurol (Paris)*: 171/11: 750-761. doi: 10.1016/j.neurol.2015.07.011
- (49) Lohmann, E., Coquel, A. S., Honoré, A., Gurvit, H., Hanagasi, H., Emre, M., Leutenegger, A. L., Drouet, V., Sahbatou, M., Guven, G., Erginel-Unaltuna, N., Deleuze, J. F., Lesage, S. & Brice, A. (2015). A new F-box protein 7 gene mutation causing typical Parkinson's disease. *Mov Disord*. 30(8): 1130-1133.
- (50) <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=FBXO7>
- (51) Joseph, S. L. (2017). A novel role for the E3 ubiquitin ligase FBXO7 in axon-myelin interaction. PhD thesis, Universität Göttingen.
- (52) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/114132>
- (53) <https://www.mikroimmuntherapie.com/parkinson-und-entzuendung-die-rolle-des-immunsystems/>
- (54) <https://www.iddrc.org/cores/neurodevelopmental-behavioral/functional-domains/motor-function/>
- (55) Heyken, L. (2005). Charakterisierung genetisch manipulierter Maus-Modelle des Morbus Parkinson. Dissertation an der Ruhr-Universität Bochum.
- (56) <https://www.noldus.com/blog/assessing-motor-deficits-mice-following-traumatic-brain-injury>
- (57) Dodiya, H. B., Forsyth, C. B., Voigt, R. M., Engen, P. A., Patel, J., Shaikh, M., Green, S. J., Naqib, A., Roy, A., Kordower, J. H., Pahan, K., Shannon, K. M. & Keshavarzian, A. (2018). Chronic stress-induced gut dysfunction exacerbates Parkinson's disease phenotype and pathology in a rotenone-induced mouse model of Parkinson's disease. *Neurobiol Dis*. pii: S0969-9961(18)30768-X. doi: 10.1016/j.nbd.2018.12.012
- (58) Gubellini, P. & Kachidian, P. (2015). Animal models of Parkinson's disease: An updated overview. *Rev Neurol (Paris)*. 171 (11): 750-761. doi: 10.1016/j.neurol.2015.07.011
- (59) Trigo-Damas, I., Del Rey, N. L. & Blesa, J. (2018). Novel models for Parkinson's disease and their impact on future drug discovery. *Expert Opin Drug Discov*. 2018 Mar;13(3):229-239. doi: 10.1080/17460441.2018.1428556.
- (60) Walsweer, T. (2019). Tierversuche: Geht's auch ohne? Tagungsbericht online. <https://www.volkswagenstiftung.de/aktuelles-presse/aktuelles/geht-s-auch-ohne-auf-der-suche-nach-alternativen-zu-tierversuchen>
- (61) Marshall, L. J. & Willett, C. (2018). Parkinson's disease research: adopting a more human perspective to accelerate advances. *Drug Discov Today*. 23 (12): 1950-1961. doi: 10.1016/j.drudis.2018.09.010.
- (62) Falkenburger, B.H., Saridaki, T. & Dinter, E. (2016). Cellular Models for Parkinson's disease. *J Neurochem*. 139, Suppl 1: 121-130. doi: 10.1111/jnc.13618

- (63) Schöndorf DC et al. (2018). The NAD<sup>+</sup> precursor, nicotinamide riboside, rescues mitochondrial defects and neuronal loss in iPSC and fly models of Parkinson's disease. *Cell Reports*, 23 (10) doi: 10.1016/j.celrep.2018.05.009
- (64) Sangjune Kim, Seung Pil Yun, Saebom Lee, George Essien Umanah, Veera Venkata Ratnam Bandaru, Xiling Yin, Peter Rhee, Senthilkumar S. Karuppagounder, Seung-Hwan Kwon, Hojae Lee, Xiaobo Mao, Donghoon Kim, Akhilesh Pandey, Gabsang Lee, Valina L. Dawson, Ted M. Dawson and Han Seok Ko (2018). GBA1 deficiency negatively affects physiological a-synuclein tetramers and related multimers. *PNAS* 115 (4) 798-803.
- (65) <https://www.hshl.de/hochschule-hamm-lippstadt/news-presse-blog/presse/dfg-forschungsprojekt-zu-morbus-parkinson-gestartet/>
- (66) <https://idw-online.de/en/news648580>
- (67) <https://www.gobiond.com/2019/04/03/bi-ond-joins-forces/>
- (68) Kleinknecht A, Popova B, Lázaro DF, Pinho R, Valerius O, Outeiro TF, Braus GH (2016): C-terminal Tyrosine Residue Modifications Modulate the Protective Phosphorylation of Serine129 of a a-Synuclein in a Yeast Model of Parkinson's Disease. *PLOS GENETICS*, 12(6): e1006098. doi: 10.1371/journal.pgen.1006098
- (69) Lázaro, D. F., Angeliki S. Pavlou, M. & Fleming Outeiro, T. (2017). Cellular models as tools for the study of the role of alpha-synuclein in Parkinson's disease. *Experimental Neurology* 298: 162–171.
- (70) Ghatak, S., Trudler, D., Dolatabadi, N. & Ambasadhan, R. (2018). Parkinson's disease: what the model systems have taught us so far. *J Genet.* 97(3): 729-751.
- (71) Leist, M., Ghallab, A., Graepel, R., Marchan, R., Hassan, R., Bennekou, S.H., Limonciel, A., Vinken, M., Schildknecht, S., Waldmann, T., Danen, E., van Ravenzwaay, B., Kamp, H., Gardner, I., Godoy, P., Bois, F.Y., Braeuning, A., Reif, R., Oesch, F., Drasdo, D., Höhme, S., Schwarz, M., Hartung, T., Braunbeck, T., Beltman, J., Vrieling, H., Sanz, F., Forsby, A., Gadaleta, D., Fisher, C., Kelm, J., Fluri, D., Ecker, G., Zdrazil, B., Terron, A., Jennings, P., van der Burg, B., Dooley, S., Meijer, A.H., Willighagen, E., Martens, M., Evelo, C., Mombelli, E., Taboureaux, O., Mantovani, A., Hardy, B., Koch, B., Escher, S., van Thriel, C., Cadenas, C., Kroese, D., van de Water, B. & Hengstler, J. G. (2017). Adverse outcome pathways: opportunities, limitations and open questions. *Arch Toxicol.* 91/11: 3477-3505. DOI 10.1007/s00204-017-2045-3

